

PENGUJIAN BEBERAPA BAKTERI PENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PADA TANAMAN PADI

Test of Some Bacteria Inhibiting The Growth of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Rice Plants

Zuraidah

Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Tarbiyah, IAIN Ar-Raniry, Banda Aceh
e-mail: idamyrza@yahoo.com

Abstrak

Penyakit hawar daun bakteri (HDB) yang disebabkan oleh bakteri patogen tanaman *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) dapat menyebabkan kematian pada tanaman padi. Pengendalian bakteri patogen pada tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan agen biokontrol. Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mempelajari kemampuan penghambatan delapan isolat bakteri terhadap bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) yang merupakan penyebab penyakit HDB pada tanaman padi di rumah kaca. Isolat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas: *Pseudomonas aeruginosa* C32a dan C32b, *P. fluorescens* ATCC 13525 Pf, *Serratia marcescens* E31, *Bacillus* sp. I.5, *B. cereus* I.21 dan II.14, dan *B. firmus* E65. Metode yang digunakan dalam penelitian terdiri atas uji hipersensitivitas, uji bakteri antagonis terhadap Xoo, dan aplikasi *in vivo* agen biokontrol di rumah kaca. Uji hipersensitivitas pada tanaman tembakau menggunakan inokulum C32a dan C32b menunjukkan daun sedikit menguning tetapi tidak menyebabkan nekrosis. Injeksi menggunakan inokulum Xoo menunjukkan nekrosis pada daun tembakau. Uji antagonis secara *in vitro* menunjukkan isolat C32a, C32b, Pf, I.21, dan I.5 memiliki aktivitas penghambatan terhadap Xoo, sedangkan isolat lainnya tidak menunjukkan aktivitas penghambatan. Hasilnya menunjukkan bahwa penggunaan isolat C32a mampu menekan panjang lesio HDB lebih baik dari pada kontrol pembanding kimia dengan tembaga sulfat. Pengukuran pertumbuhan tanaman padi diukur berdasarkan dari tinggi tanaman, jumlah anakan, jumlah malai, dan bobot gabah.

Kata kunci: padi, biokontrol, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, hawar daun bakteri

Abstract

Bacterial leaf blight (BLB) disease caused by plant pathogenic bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) could lead to death of rice plants. Control of plant pathogenic bacteria can be performed using biological control agents. The aim of this research was to study the inhibitory ability of eight isolates of biocontrol bacteria against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) under greenhouse conditions. Isolates of biological agents used in the study were obtained from IPB Culture Collection (IPBCC), Department of Biology, IPB and microbial gene bank collection of Indonesian Center for Agriculture Biotechnology and Genetic Resources (BB Biogen), consisting of *Pseudomonas aeruginosa* C32a and C32b, *P. fluorescens* ATCC 13525 Pf, *Serratia marcescens* E31, *Bacillus* sp. I.5, *B. cereus* I.21 and II.14, and *B. firmus* E65 isolates. The methods used in the research i.e. hypersensitivity test, antagonistic test of biocontrol bacteria to Xoo, and *in vivo* application of biological agents in the greenhouse condition. Hypersensitivity test on tobacco plants using C32a and C32b inoculums showed characteristics of slightly leaf yellowing but did not cause necrosis. Injection using Xoo inoculum showed necrosis on tobacco leaves. Antagonist isolates i.e. C32a, C32b, Pf, I.21, and I.5 showed inhibitory activity against Xoo, whereas others isolates did not show inhibitory activity. In greenhouse experiments IR 64 rice plants were sprayed with biological control agents (10^7 cfu/ml) at 7 days, 14 days, 28 days, and 42 days after planting. The results showed that C32a isolate could suppress better the lesion length of BLB than that of chemical control (copper sulphate).
Keywords: Rice, biocontrol, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, bacterial leaf blight

PENDAHULUAN

Hawar Daun Bakteri (HDB) disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) merupakan

salah satu penyakit yang secara ekonomis dapat menurunkan kuantitas serta kualitas produksi tanaman padi (Goto, 1998). Penyakit ini tersebar hampir di seluruh daerah pertanian padi di

Indonesia baik di dataran rendah maupun dataran tinggi baik pada musim kemarau maupun musim hujan. Penyakit ini pada musim hujan biasanya berkembang lebih pesat dibandingkan musim kemarau. Kerugian hasil yang disebabkan oleh HDB dapat mencapai 60%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bila tingkat keparahan sebesar 20% sebulan sebelum panen, penyakit ini sudah mulai menurunkan hasil (Deptan, 2011).

Berbagai usaha penanggulangan penyakit ini telah banyak dilakukan, antara lain dengan menggunakan bahan kimia sintetik seperti asam benzoat dan nitrit, ataupun aplikasi pestisida berbahan dasar senyawa antibiotik (Asman, 1996). Penggunaan senyawa kimia sebagai pupuk dan pestisida serta antibiotik dalam penanganan penyakit tanaman dapat menyebabkan resistensi terhadap bakteri, menimbulkan residu, dan pencemaran lingkungan.

Alternatif biokontrol seperti aplikasi mikroba pengendali hayati menghasilkan zat antimikroba tanpa mencemari lingkungan. Bakteri mampu menghasilkan senyawa metabolit yang memiliki efek bakterisidal atau bakteristatik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Genus bakteri yang umum digunakan dan menghasilkan zat antimikroba berupa bakteriosin ialah *Bacillus* sp. (Bizani dan Brandelli, 2002; He *et al.*, 2005). Agen biokontrol yang sudah digunakan antara lain *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*. Formulasi campuran kedua bakteri tersebut telah diaplikasikan untuk mengendalikan penyakit pustul bakteri kedelai yang disebabkan oleh *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* (Dirmawati, 2005).

Sejumlah spesies bakteri dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* yang tergolong *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) selain memacu pertumbuhan tanaman juga dapat meningkatkan ketahanan terhadap penyakit karena memproduksi antibiotik (Wahyudi *et al.*, 2009), dapat memproduksi asam sianida, siderofor (Santhini *et al.*, 2005), enzim ekstraseluler yaitu kitinase, selulase, dan protease yang melisis sel patogen (Jaiganesh *et al.*, 2007; Mubarik *et al.*, 2010). Suryadi *et al.*, (2011) melaporkan beberapa isolat bakteri memiliki potensi menekan penyakit blas atau hawar pelepah (*sheath blight*) pada aplikasi di rumah kaca, seperti *B. cereus* I.21, *B. firmus* E65, *B. cereus* II.14, *B. cereus* C29d, *Bacillus* sp. I.5, dan *Serratia marcescens* E31 menunjukkan kecenderungan lebih baik menekan blas dari pada fungisida Delsene yang mengandung bahan aktif mancozeb. Tujuan penelitian ini untuk mempelajari kemampuan penghambatan delapan isolat bakteri

terhadap bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* yang merupakan penyebab penyakit HDB pada tanaman padi di rumah kaca. Informasi yang didapatkan dari penelitian ini diharapkan dapat mendukung pemanfaatan lebih lanjut bakteri biokontrol yang efektif untuk mengendalikan pertumbuhan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada tanaman padi di lapangan.

METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah: padi IR64, tanaman tembakau, isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* C32a dan C32b, *Serratia marcescens* E31, *B. firmus* E65, dan isolat patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Xoo dari koleksi bank gen mikroba BB Biogen. Isolat bakteri *P. fluorescens* ATCC 13525 Pf, *Bacillus* sp. I.5, dan *Bacillus cereus* I.21 dan II.14 dari koleksi IPB Culture Collection (IPBCC) Departemen Biologi, FMIPA, IPB.

Peremajaan Mikrob. Isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* C32a dan C32b dan *P. fluorescens* Pf diperbanyak dengan memindahkan kultur pada medium agar-agar King'S B dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Isolat tersebut diremajakan dan diperiksa kemurniannya dengan menggunakan metode kuadran. Biakan yang telah murni ditumbuhkan pada medium agar-agar miring King'S B dan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 20°C. Hal yang sama juga dilakukan pada isolat bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) yang diperbanyak pada medium WA serta isolat bakteri *Serratia marcescens* E31, *Bacillus* sp. I.5, *Bacillus cereus* I.21 dan II.14, dan *B. firmus* E65 yang masing-masing diperbanyak dengan memindahkan kultur pada medium NA.

Uji Reaksi Hipersensitif Isolat Uji serta Isolat Patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* terhadap Tanaman Tembakau. Uji reaksi hipersensitif dilakukan pada daun tembakau (*Nicotiana glauca*) (Zhu *et al.*, 2000). Masing-masing isolat C32a, C32b, dan Pf diperbanyak pada medium King'S B cair. Xoo diperbanyak pada medium WA cair, serta E31, I.5, I.21, II.14, dan E65 diperbanyak pada medium NA cair diinkubasi selama 24 jam pada *rotary shaker* hingga populasinya mencapai 10^7 cfu/ml. Masing-masing inokulum diinjeksi sebanyak 1 ml menggunakan *syringe* steril berukuran 1 ml tanpa jarum pada bagian belakang helaian daun tembakau yang sehat. Sebagai kontrol negatif digunakan akuades steril. Daun tembakau diberi

label sesuai isolat yang diinjeksi. Respon tanaman diamati dalam jangka waktu 24-48 jam. Pengamatan pada daun tembakau terjadi nekrosis atau tidak. Isolat-isolat yang tidak menimbulkan respon hipersensitif kemudian dipilih untuk diuji daya hambatnya terhadap Xoo.

Seleksi Isolat Uji yang Berpotensi Menghambat Pertumbuhan *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. Uji ini menggunakan metode *double layer* (Lisboa *et al.*, 2006). Uji daya hambat bakteri-bakteri uji terhadap Xoo secara *in vitro* dilakukan untuk menyeleksi isolat yang berpotensi sebagai agen biokontrol. Sebanyak 800 μ L (10^7 cfu/ml) kultur cair bakteri patogen diinokulasi ke dalam 80 ml WA semipadat lalu dituang pada permukaan cawan WA padat masing-masing sebanyak 10 ml. Setelah permukaan media WA *double layer* memadat, potongan kertas saring Whatman No.2 (diameter 0,7 cm) yang telah direndam dalam larutan yang mengandung bakteri yang berumur 24 jam, kertas cakram dikeringanginkan kemudian diletakkan di tengah cawan petri yang berisi biakan bakteri Xoo. Biakan diinkubasi selama 24 jam kemudian diamati zona hambat di sekeliling cakram. Perlakuan kontrol terdiri atas, kontrol negatif dengan akuades steril dan kontrol pembanding kimia (bakterisida Nordox 56 WP mengandung bahan aktif CuSO_4 50%). Setiap perlakuan dilakukan tiga ulangan. Diameter zona hambat yang terbentuk kemudian diamati setelah inkubasi 24 jam pada suhu ruang. Indeks aktivitas antimikrob dihitung dengan cara (Patra *et al.*, 2009).

Uji *In Vivo* Aplikasi Isolat Uji terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada Tanaman Padi di Rumah Kaca.

Bibit padi IR64 yang akan disemai dipersiapkan terlebih dahulu dengan cara dicuci dengan alkohol 95% selama kurang lebih 1 menit kemudian dicuci dengan akuades steril selama tiga menit sebanyak tiga kali. Kemudian dipilih benih yang tenggelam. Setelah dicuci, benih dibungkus dengan kain kasa dan diletakkan di bawah aliran air kran hingga berkecambah selama lebih kurang empat hari, kemudian ditanam di bak plastik berukuran 15 30 cm^2 berisi tanah steril lembab \pm 5 Kg yang telah dicampur pupuk NPK (1:1:1). Benih padi berumur 18 hari dipindahkan ke dalam pot-pot berdiameter 30 cm, dan setiap pot ditanam 3 rumpun padi.

Koloni Xoo yang telah diperbanyak pada medium agar-agar miring selama 24 jam diambil sebanyak 2 ose kemudian ditumbuhkan dalam medium WA cair selama 48 jam dan diukur

kerapatannya sampai 10^7 cfu/ml. Hal yang sama juga dilakukan pada isolat bakteri C32a, C32b, Pf, E31, I.5, I.21, II.14, dan E 65 sesuai medium pertumbuhannya. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 11 perlakuan dan 3 ulangan, total unit percobaan adalah 33 satuan percobaan.

Penyemprotan 30 ml filtrat suspensi bakteri dilakukan sebelum inokulasi patogen Xoo (preventif), yaitu umur 7 hari, 14 hari, 28 hari, dan 42 hari setelah tanam. Sebanyak sepuluh daun padi yang telah berkembang penuh atau daun bendera dalam setiap rumpun padi di setiap pot, masing-masing diinokulasi patogen Xoo dengan cara pengguntingan daun (*leaf clipping method*) pada saat tanaman mencapai 45 hari setelah tanam. Perlakuan kontrol pembanding menggunakan penyemprotan senyawa kimia tembaga sulfat sebanyak 2 g/L dan kontrol negatif disemprot dengan akuades steril, serta kontrol sakit diinokulasi dengan Xoo. Pengamatan terhadap gejala penyakit HDB dilakukan pada setiap pot dengan selang waktu tiga hari selama sebulan setelah inokulasi melalui pengukuran panjang lesio (*lesion length*) HDB. Selanjutnya dilakukan penghitungan *area under the disease progress curve* (AUDPC). Luasan area di bawah kurva perkembangan penyakit ini ditentukan untuk mengetahui hubungan antara intensitas penyakit terhadap respon waktu (Shaner dan Finney, 1977).

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 11 perlakuan dan 3 ulangan. Data hasil percobaan dianalisis dengan menggunakan analisis ragam pada taraf kepercayaan 95% (ANOVA), jika menunjukkan pengaruh nyata maka selanjutnya dilakukan uji perbandingan nilai tengah dengan menggunakan Duncan Multiple Range Test (Uji jarak berganda Duncan, DMRT) pada taraf 5% ($\alpha=0,05$) dengan menggunakan program SPSS 16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peremajaan Mikrob

Pertumbuhan *P. aeruginosa* C32a dan C32b lebih cepat dibandingkan *P. fluorescens* Pf. Biakan C32a dan C32b mampu tumbuh dalam waktu 24 jam dan mengubah warna media King's B menjadi hijau kekuningan karena isolat tersebut mampu mengeluarkan berbagai pigmen *pyocyanin* (biru-hijau), *pyoverdine* (kuning-hijau), dan *pyorubin* (merah-coklat) (King *et al.*, 1998). Bakteri ini termasuk Gram negatif, aerob, berbentuk batang dengan motilitas unipolar. Sedangkan *P.*

fluorescens tumbuh berpendar dalam waktu 48 jam pada medium agar King'S B. Bakteri ini termasuk Gram negatif dan berbentuk batang. *Serratia marcescens* E31, *Bacillus* sp. I.5, *Bacillus cereus* I.21 dan II.14, dan *B. firmus* E65 ditumbuhkan pada media agar-agar miring NA, pertumbuhannya cepat dalam waktu 24 jam pada suhu ruang. *Serratia marcescens* termasuk bakteri Gram negatif, anaerob fakultatif. Koloni isolat *B. firmus* memiliki bentuk tidak beraturan dan menyebar dengan tepian berombak serta elevasi timbul. Koloni isolat *Bacillus* sp., *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, dan *B. cereus* dicirikan dengan bentuk bundar, tepian licin serta elevasi cembung. *B. cereus* II.14 merupakan bakteri Gram positif penghasil endospora, berbentuk sel batang, penataan berantai, bersifat aerobik (Tay *et al.*, 2008). Isolat patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna kekuningan berlendir dengan bentuk koloni bulat, halus, mengkilap, berkapsul, tidak berspora, bergerak dengan satu bulu cambuk (*flagellum monotris*), dan bersifat Gram negatif (Yamasaki *et al.*, 2006).

Uji Reaksi Hipersensitif Isolat Biokontrol serta Isolat Patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* terhadap Tanaman Tembakau

Pengujian reaksi hipersensitif pada daun tanaman tembakau setelah 48 jam diinjeksi inokulum C32a dan C32b menunjukkan ciri-ciri daun agak menguning tetapi tidak menyebabkan nekrosis. Hasil injeksi dengan inokulum dari isolat biokontrol yang lainnya tidak menunjukkan perubahan pada daun tembakau dan tidak terjadi nekrosis, artinya bakteri biokontrol tidak patogenik terhadap tanaman tembakau sehingga tidak menyebabkan jaringan kolaps dan mati.

Injeksi dengan menggunakan inokulum Xoo, menunjukkan nekrosis munculnya bercak abu-abu gelap dan berubah menjadi kecoklatan pada daun tembakau. Reaksi hipersensitif merupakan proses kematian sel yang cepat dan terlokalisasi. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen yang merupakan usaha untuk menghambat pertumbuhan patogen. Induksi hipersensitif dan patogenitas dipengaruhi oleh gen *hrp* yang umumnya ditemukan pada bakteri Gram negatif patogen tanaman, termasuk kelompok *Xanthomonas* sp. (Zhu *et al.*, 2000).

Injeksi perlakuan kontrol dengan akuades steril tidak terjadi nekrosis. Semua bakteri biokontrol tidak menimbulkan respon hipersensitif

terhadap tanaman tembakau sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian daya hambat isolat-isolat tersebut terhadap Xoo, dan aplikasi pada tanaman padi secara *in vivo* di rumah kaca.

Seleksi Isolat Biokontrol yang Berpotensi Menghambat Pertumbuhan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Isolat yang berpotensi menghambat pertumbuhan Xoo ditunjukkan dengan pembentukan zona hambat. Pertumbuhan Xoo dapat dihambat oleh isolat C32a, C32b, Pf, I.21, dan I.5. Pada perlakuan kontrol negatif menggunakan akuades steril, Xoo tumbuh hingga memenuhi permukaan cawan berisi media WA. Sedangkan pada perlakuan kontrol pembandingan kimia dengan tembaga sulfat menunjukkan zona hambat terhadap pertumbuhan Xoo. Hasil pengujian efektivitas antagonisme bakteri terhadap bakteri patogen Xoo secara *in vitro* memperlihatkan adanya penghambatan pertumbuhan Xoo dengan terbentuknya zona hambat (Tabel 1). Isolat C32a dan C32b dapat menghambat pertumbuhan Xoo secara *in vitro* yang berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol pembandingan kimia tembaga sulfat.

Biakan *P.aeruginosa* memproduksi endotoksin dan produk ekstraseluler yang mendukung invasi lokal dan penyebaran mikroorganisme. Toksin dan produk ekstraseluler ini mencakup protease ekstraseluler, sitotoksin, hemolisin, dan piosianin (Arwiyanto *et al.*, 2007). Berdasarkan hasil penelitian Hassanein *et al.*, (2009), *Pseudomonas* sp. memiliki kemampuan untuk memproduksi metabolit sekunder yang berbeda-beda seperti siderofor pengkelat besi (Fe), amonia, dan sianida. Menurut Verschuere *et al.*, (2000) penghambatan pertumbuhan tidak selalu berkaitan dengan produksi senyawa antimikrob seperti antibiotik, tetapi juga karena adanya senyawa metabolit sekunder atau adanya perubahan pH.

Uji *In Vivo* Aplikasi Bakteri Biokontrol terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada Tanaman Padi di Rumah Kaca

Hasil uji *in vivo* gejala nekrosis pada daun padi yang telah diinokulasi Xoo mulai terlihat 2 hari setelah inokulasi (hsi) dengan gejala berupa daun layu seperti tersiram air panas (*water soaking*) dan berkembang menjadi gejala hawar sehingga daun berwarna kekuningan mulai 3 hsi. Gejala penyakit tersebut memanjang di sepanjang tepi daun atau di seluruh helaian daun. Panjang

lesio bertambah sepanjang waktu pengamatan hingga 18 hsi.

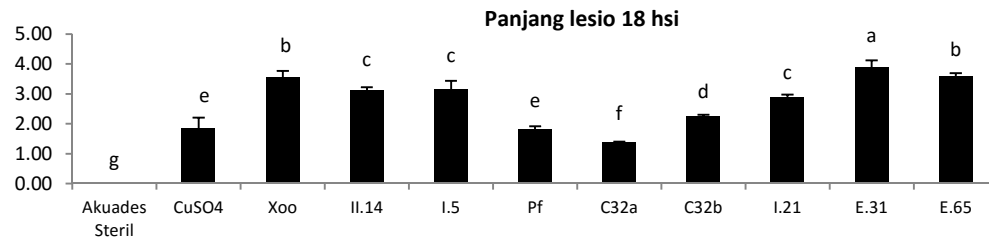
Pengukuran intensitas perkembangan penyakit HDB padi ini dilanjutkan dengan penghitungan AUDPC. Penyemprotan dengan suspensi bakteri C32a merupakan perlakuan

terbaik dalam menekan intensitas penyakit HDB dengan panjang lesio terendah ialah 1,379 cm (Gambar 1) dan nilai AUDPC terendah yaitu 49,10 cm.hari. Perlakuan penyemprotan isolat C32a berbeda nyata terhadap perlakuan bakterisida dengan tembaga sulfat.

Tabel 1. Zona hambat dan indeks aktivitas antimikrob isolat-isolat biokontrol terhadap Xoo

Perlakuan	Isolat	Nilai rata-rata zona hambat (cm)	Indeks aktivitas mikrob (%)
C32a	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.3 a	325
C32b	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.0 ab	250
Pf	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.8 bc	200
E.31	<i>Serratia marcescens</i>	0 e	0
E.65	<i>Bacillus firmus</i>	0 e	0
I.21	<i>Bacillus cereus</i>	0.5 bc	125
II.14	<i>Bacillus cereus</i>	0 e	0
I.5	<i>Bacillus sp.</i>	0.3 c	75
Tembaga sulfat/CuSO ₄ (+)	-	0.4 c	100
Akuades (-)	-	0 e	0

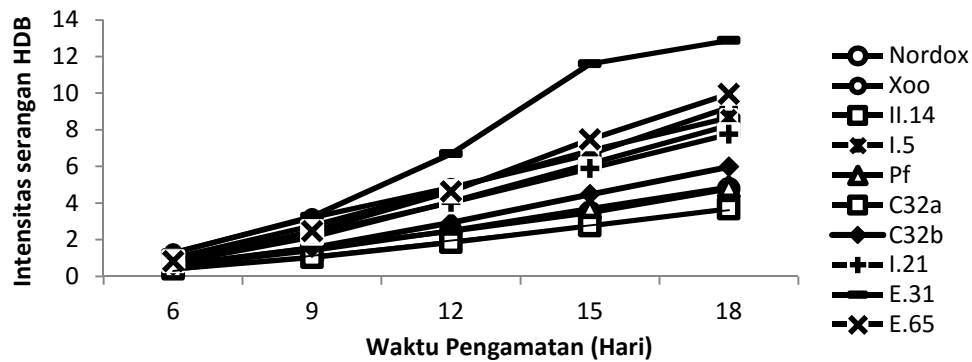
Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% (DMRT)



Gambar 1. Panjang lesio HDB pada daun padi setelah inokulasi Xoo. Keterangan: Sumbu X ialah perlakuan kontrol dan perlakuan isolat, sumbu Y ialah panjang lesio HDB (cm)

Efisiensi dan konsistensi pengendalian hayati sangat tergantung pada aktivitas, densitas dan lokalisasi agen biokontrol pada bagian tanaman (Duijff *et al.*, 1997). Kolonisasi tanaman secara internal oleh bakteri merupakan aspek penting bagi efeksi agen biokontrol, kemampuan sel-sel bakteri memasuki jaringan tanaman sekaligus berkompetisi dengan bakteri lain yang berasosiasi dengan tanaman (Quadt *et al.*, 1977). Lama kolonisasi daun padi oleh bakteri diduga merupakan salah satu aspek yang berperan dalam

menentukan aktivitas antagonis melindungi daerah stomata pada daun padi. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut, mengindikasikan bahwa perlakuan preventif lebih efektif, karena aplikasi bakteri hayati yang bersifat antagonis akan lebih efektif menekan pertumbuhan Xoo pada saat tanaman padi berumur 7, 14, 28, dan 42 hari setelah tanam. Menurut Utkhede, (2005) agen biokontrol umumnya lebih efektif bila diaplikasikan sebagai perlakuan preventif sebelum penyakit berkembang.



Gambar 2. Intensitas serangan HDB pada tanaman padi berdasarkan nilai AUDPC

Perlakuan dengan isolat C32a membentuk grafik linear serangan HDB sampai 18 hsi dengan nilai AUDPC terendah (Gambar 2). Perlakuan dengan isolat Pf dan tembaga sulfat menunjukkan garis linear yang hampir berhimpit karena memiliki nilai yang hampir sama yang menunjukkan kedua perlakuan ini tidak berbeda nyata (Gambar 2). Sedangkan isolat E31 menunjukkan garis yang tidak linear dan memiliki nilai serangan penyakit yang lebih tinggi dari pada kontrol sakit dengan Xoo. Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi isolat E31 kurang efektif untuk menekan perkembangan gejala penyakit HDB. Dengan kata lain terjadi perbedaan perkembangan gejala penyakit lebih banyak disebabkan oleh peningkatan pertumbuhan tanaman yang semakin meningkat memasuki periode generatif yang cenderung lebih rentan terhadap infeksi patogen.

Someya *et al.*, (2005) melaporkan bahwa perlakuan preventif lebih efektif, namun aplikasi lanjutan juga perlu dilakukan untuk memperoleh penekanan penyakit yang dapat bertahan lama, namun keefektifan agen biokontrol di lapangan sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan, baik biotik maupun abiotik.

SIMPULAN

Isolat *Pseudomonas aeruginosa* C32a dan C32b, *P. fluorescens* Pf, *Bacillus cereus* I.21, dan *Bacillus* sp. I.5 memiliki potensi yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen tanaman padi *X. oryzae* pv. *oryzae* secara *in vivo* dibandingkan perlakuan menggunakan akuades steril dan tembaga sulfat sebagai bakterisida kimia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Dr. Nisa Rachmania Mubarik, M.Si. dan Ir. Yadi Suryadi,

M.Sc., Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Biologi IPB dan Laboratorium BB Biogen Cimanggu Bogor yang telah banyak membantu dalam terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto, T., Maryudani, YMS. dan Azizah, NN. 2007. Sifat-sifat fenotik *Pseudomonas fluorescens*, agensia pengendali hayati penyakit lincat pada Tembakau Temanggung. *J. Biodiversitas.*, 8: 147-151.
- Asman, A. 1996. Penyakit layu pada tanaman nilam dan cara pengendaliannya. In: *Integrated Control on Main Disease of Industrial Crops. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan*; Bogor, 13-14 Mar 1996. Bogor: Research Institute for Spice and Medicinal Crops, pp. 284-290. Bogor.
- Bizani, D. dan Brandelli, A. 2002. Characterization of bacteriocin produced by a newly isolated *Bacillus* sp. Strain A. *J. Appl. Microbiol.*, 93: 512-519.
- [Deptan] Departemen Pertanian, 2011. *Penyakit Padi karena Bakteri*. <http://bbpadi.litbang.deptan.go.id/index.php/in/penyakit-padi-karena-bakteri/204-penyakit-hawar-daun-bakteri-blb-in> diakses pada 20 November 2011.
- Dirmawati, SR. 2005. Penurunan intensitas penyakit pustule bakteri kedelai melalui strategi cara tanam tumpangsari dan penggunaan agensia hayati. *J. Agrijati.*, 1: 7-10.
- Duijff, BJ., Gianinazzi, P. dan Lemanceau, P. 1997. Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic root colonization of tomato roots by biocontrol

- Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r. *J. Phyto.*, 135: 325-334.
- Goto, M. 1998. Kresak and pale yellow leaf systemic symptoms of bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae*. *PI. Dis. Rep* 48: 858-861.
- Hassanein, WA., Awany, NM., El-Moughith, AA. dan Salah El-Dien, SH. 2009. The antagonistic activities of some metabolites produced by *Pseudomonas aeruginosa* Sha8. *J. Appl. Sci. Res.*, 5: 404-414.
- He, L., Weiliang, C. dan Yang, L. 2005. Production and partial characterization of bacteriocin like peptides by *Bacillus licheniformis* ZJU12. *J. Microbiol. Res.*, 161: 321-326.
- Jaiganesh, V., Eswaran, A., Balabaskar, P. dan Kannan, C. 2007. Antagonistic activity of *Serratia marcescens* against *Pyricularia oryzae*. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.*, 35: 48-54.
- King, EO., Ward, MK. dan Raney, DE. 1998. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.*, 44: 301-7.
- Lisboa, MP., Bonatto, D., Bizani, D., Henriques, JAP. dan Brandelli, A. 2006. Characterization of a bakteriosin-like substance produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from the Brazilian Atlantic forest. *Int. Microbiol.*, 9: 111-118.
- Mubarik, NR., Mahagiani, I., Putri, AA., Santoso, S. dan Rusmana, I. 2010. Chitinolytic bacteria isolated from chili rhizosphere: chitinase characterization and application as biocontrol for whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.). *Am. J. Agric. Biol. Sci.*, 5: 430-535.
- Patra, et al. 2009. Antimicrobial activity of organic solvent extracts of three marine macroalgae from Chilika Lake, Orissa, India. *Malay. J. Microbiol.*, 5: 128-131.
- Quadt, HA., Hallman, J. dan Kloepper, JW. 1997. Bacterial endophytes in cotton: location and interaction with other plant associated bacteria. *J. Microbiol.*, 43: 254-259.
- Santhini, E., Pradeepa, D., Angayarkanni, T. dan Kamalakannan, A. 2005. Identification of biochemical markers for the selection of effective strains of *Pseudomonas fluorescens* against *Phythium* spp. In: Gnanamanickam, SS., Balasubramaniam, R. and Anand, N.(Eds.). *Proceedings of the Asian Conference on Emerging Trends in Plant-Microbes Interactions*. Chennai: Center for 295-Advanced Studies in Botany University of Madras. pp. 295-303. Chennai. India.
- Shaner, G. dan Finney, RE. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *J. Phyto.*, 67: 1051-1056.
- Someya, NK., Tsuchiya. dan Akutsu, K. 2005. Negative interaction between antagonistic microbes phytopathogens and epiphytic microbes in biological control of plant pathogens. In: Gnanamanickam, SS., Balasubramaniam, R. and Anand, N. (Eds.). *Proceedings of the Asian Conference on Emerging Trends in Plant-Microbes Interactions*. Chennai: Univ. Madras Chennai. Pp. 25-29.
- Suryadi, Y., Susilowati, DN., Mubarik, NR. dan Putri, KE. 2011. Antagonistic activity of indigenous Indonesian bacteria as the suppressing agent of rice fungal pathogen. *J. Int. Environ. Appl. Sci.*, siap terbit.
- Tay, L., Goh, KT. dan Tan, SE. 2008. An outbreak of *Bacillus cereus* Food Poisoning. *Singapore. J. Medic.*, 23: 214-217.
- Utkhede, R. 2005. Molecular approaches for diagnosis and biological control of diseases of green house crops. In: Gnanamanickam, SS., Balasubramaniam, R. and Anand, N. (Eds.). *Proceedings of the Asian Conference on Emerging Trends in Plant-Microbes Interactions*. Chennai: Univ. Madras Chennai. pp.11-18. Chennai. India.
- Verschuere, L., Geert, R., Patrick, S. dan Willy, V. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *J. Microbiol. Mol. Biol.*, 64: 665-671.
- Wahyudi, AT., Astuti, RI., Mubarik, NR. dan Faulina, SA. 2009. Detection and cloning of a gene involved in zwitermicin a biosynthesis from plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus* sp. CR64. *J. Biotechnol.*, 15: 9-14.
- Yamasaki, RAD., Murata, N. dan Suwa, T. 2006. Studies on the culture of *Xanthomonas oryzae*. *J. Bacteriol.*, 142: 946-949.
- Zhu, W., Magbanua, MM. dan White, FF. 2000. Identification of two novel *hrp*-associated genes in the *hrp* gene cluster of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J. Bacteriol.*, 182: 1844-1853.